

22. 7. 2004

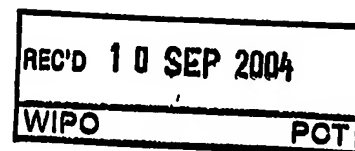
日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日            2 0 0 3 年   7 月 1 7 日  
Date of Application:

出 願 番 号            特 願 2 0 0 3 - 2 7 5 8 4 7  
Application Number:  
[ST. 10/C]:            [ J P 2 0 0 3 - 2 7 5 8 4 7 ]



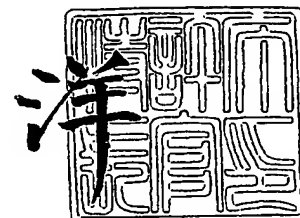
出 願 人            旭化成ファーマ株式会社  
Applicant(s):

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年   8 月 2 6 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願  
【整理番号】 X1030907  
【提出日】 平成15年 7月17日  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 B01J 13/00  
【発明者】  
    【住所又は居所】 宮崎県延岡市旭町 6 丁目 4 1 0 0 番地 旭化成株式会社内  
    【氏名】 本郷 智子  
【発明者】  
    【住所又は居所】 宮崎県延岡市旭町 6 丁目 4 1 0 0 番地 旭化成株式会社内  
    【氏名】 浜崎 直子  
【特許出願人】  
    【識別番号】 000000033  
    【氏名又は名称】 旭化成株式会社  
    【代表者】 蛭田 史郎  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 011187  
    【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 図面 1  
    【物件名】 要約書 1

**【書類名】特許請求の範囲****【請求項 1】**

(a)～(c)を含み、少なくとも pH4～11 の範囲で安定であることを特徴とする金属コロイド溶液。

(a) 平均粒子径 1～100 nm の金属コロイド粒子

(b) N基を含有する水溶性高分子量分散剤

(c) 水または／および水溶性有機溶剤

**【請求項 2】**

(a)～(c)を含み、50℃ 1 年間の保存で安定であることを特徴とする金属コロイド溶液。

(a) 平均粒子径 1～100 nm の金属コロイド粒子

(b) N基を含有する水溶性高分子量分散剤

(c) 水または／および水溶性有機溶剤

**【請求項 3】**

金属コロイド粒子が金、銀、白金、ロジウム、パラジウム、ルテニウム、イリジウム、オスミウム、鉄、銅のうち少なくとも一種からなる請求項 1～2 記載の金属コロイド溶液。

**【請求項 4】**

水溶性高分子量分散剤の分子量が、1000～200 万の範囲である請求項 1～3 記載の金属コロイド溶液。

**【請求項 5】**

界面活性剤を含有する請求項 1～4 記載の金属コロイド溶液。

**【請求項 6】**

金属化合物を、溶媒に溶解し、金属に還元したのち、N基を含有する水溶性高分子量分散剤を加えることを特徴とする金属コロイド溶液の製造方法。

**【請求項 7】**

金属化合物を、溶媒に溶解し、金属に還元したのち、N基を含有する水溶性高分子量分散剤を加えることにより製造された金属コロイド溶液。

**【請求項 8】**

請求項 1 あるいは 2 記載の金属コロイド溶液を用いて、ウイルス除去膜のインテグリティ試験を行なう方法。

## 【書類名】明細書

【発明の名称】金属コロイド溶液

## 【技術分野】

【0001】

本発明は、保存安定性、温度安定性、pH安定性、塩に対する安定性を示し、ウイルス除去膜のインテグリティ試験時のウイルス代替粒子として有用な金属コロイド溶液に関する。

## 【背景技術】

【0002】

これまで、平均粒子径が1～100nmの金属コロイド粒子は粒径の小ささ、表面積の大きさから多くの機能材料に応用されているが、このような粒子は粒子間力が非常に強いため、水溶液に加えても凝集を起こしやすく、全く均一に分散させることは困難であった。さらに金属コロイド粒子を安定に分散させるためには溶液のpHを特定の範囲に制御する必要がある、使用できるpH領域が著しく制限される問題があった。(特許文献1)

【0003】

また、ウイルス除去膜において既に代替粒子を用いた膜のインテグリティ試験方法が開示されている。代替粒子として用いた金コロイドの濾過による除去性と膜のウイルス除去性との間には非常によい相関関係が見られる。インテグリティ試験に際しては、ウイルス除去膜としての使用後に、洗浄処理を行い、膜の残存物を可能な限り少なくする工程が必要である。洗浄剤にはアルカリ等の溶液を使用するケースがあり、従来の金コロイド溶液では限られたpHのみでしか使用できなかったため、洗浄剤で洗浄後、膜中のpHを厳密に制御する洗浄処理が必要となり操作が非常に煩雑であった。(特許文献2、非特許文献1)

【特許文献1】特開平8-141388号公報

【特許文献2】特開平7-132215号公報

【非特許文献1】Hiroki Murakami (Etd.), Animal Cell Technology: Basic &amp; Applied Aspects, Netherland, Kluwer Academic Publishers, Vol. 4, 1992, p.87-102

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明は、保存安定性、温度安定性、pH安定性、塩に対する安定性を示し、ウイルス除去膜のインテグリティ試験に有用な、新規な金属コロイド溶液を提供することを目的とするものである。

## 【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明者は、上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、平均粒子径1～100nmの金属コロイド粒子及びN基を含有する水溶性高分子量分散剤及び水または／および水溶性有機溶剤を含み、少なくともpHが4から11の範囲であることを特徴とする金属コロイド溶液が、その目的に適合しうることを見だし、この知見に基づいて本発明をなすに至った。

【0006】

すなわち、本発明は、

(1) (a)～(c)を含み、少なくともpH4～11の範囲で安定であることを特徴とする金属コロイド溶液。

(a) 平均粒子径1～100nmの金属コロイド粒子

(b) N基を含有する水溶性高分子量分散剤

(c) 水または／および水溶性有機溶剤

(2) (a)～(c)を含み、50℃1年間の保存で安定であることを特徴とする金属コロイド溶液。

- (a) 平均粒子径  $1 \sim 100 \text{ nm}$  の金属コロイド粒子
- (b) N基を含有する水溶性高分子量分散剤
- (c) 水または／および水溶性有機溶剤
- (3) 金属コロイド粒子が金、銀、白金、ロジウム、パラジウム、ルテニウム、イリジウム、オスミウム、鉄、銅のうち少なくとも一種からなる (1) あるいは (2) 記載の金属コロイド溶液。
- (4) 水溶性高分子量分散剤の分子量が、 $1000 \sim 200$  万の範囲である (1) ～ (3) 記載の金属コロイド溶液。
- (5) 界面活性剤を含有する (1) ～ (4) 記載の金属コロイド溶液。
- (6) 金属化合物を、溶媒に溶解し、金属に還元したのち、N基を含有する水溶性高分子量分散剤を加えることを特徴とする金属コロイド溶液の製造方法。
- (7) 金属化合物を、溶媒に溶解し、金属に還元したのち、N基を含有する水溶性高分子量分散剤を加えることにより製造された金属コロイド溶液。
- (8) (1) あるいは (2) 記載の金属コロイド溶液を用いて、ウイルス除去膜のインテグリティ試験を行なう方法。

に関する。

#### 【発明の効果】

##### 【0007】

本発明の金属コロイド溶液は、保存安定性、温度安定性、pH安定性、塩に対する安定性がある。さらに、ウイルス除去膜のインテグリティ試験においてこれまでできなかった試験時の液pH範囲の拡大、試験時間（洗浄時間）の短縮、操作の簡略化が可能となる。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

##### 【0008】

以下、本発明について具体的に説明する。

##### 【0009】

本発明の金属コロイド粒子をなす金属とは、金、銀、白金、ロジウム、パラジウム、ルテニウム、イリジウム、オスミウム、鉄、銅のうち少なくとも一種からなる金属である。好ましくは金である。

##### 【0010】

本発明の水溶性高分子量分散剤および水または／および水溶性有機溶剤中に分散させる金属コロイド粒子の粒子径は、分散状態を安定に維持するためには  $1 \sim 100 \text{ nm}$  の範囲が好ましく、更に好ましくは、 $1 \sim 50 \text{ nm}$  の範囲である。 $1 \text{ nm}$  未満ではウイルス除去膜のインテグリティ試験用には小さすぎる。 $100 \text{ nm}$  を超えると分散状態が不安定化する傾向がある。

##### 【0011】

本発明の金属コロイドの含有量としては  $1 \sim 1000 \text{ ppm}$  の範囲である。好ましくは  $10 \sim 800 \text{ ppm}$  の範囲であり、さらに好ましくは  $20 \sim 700 \text{ ppm}$  の範囲である。 $1000 \text{ ppm}$  を超えると分散安定性が悪くなる。 $1 \text{ ppm}$  未満では金属コロイドの濃度として低すぎ、インテグリティ試験用には適さない。

##### 【0012】

本発明の水溶性高分子量分散剤は、コロイド粒子に対して親和性及び溶媒に対して親和性（溶媒和）を有するN基を含有する高分子である。N基は好ましくはピロリドン基を有するものであり、例えばポリビニルピロリドン、N-ビニルピロリドン／スチレン共重合ポリマー、N-ビニルピロリドン／酢酸ビニル共重合ポリマー、等の中から選ばれた少なくとも1つ以上のポリマーである。水溶性高分子量分散剤は、金属コロイドに対して直接的に保護コロイド的に作用し、コロイド同士の凝集を防いだり、表面の状態（電位）を一定に保つ作用、他の素材に対する吸着を抑制する作用がある。また、溶液の環境変化（温度、pH）に対しても安定である。（コロイド安定化の原理）。

##### 【0013】

本発明で用いる水溶性高分子量分散剤の分子量は、 $1000 \sim 200$  万の範囲である。

好ましくは1000～10万の範囲であり、さらに好ましくは1000～5万の範囲である。分子量が1000より小さいと金属コロイドの分散が不安定化する。分子量が200万を超えると溶媒への溶解性が悪くなる、取り扱いにくくなる、金属コロイドの粒子サイズに与える影響が見られる、分散が不安定化するといった傾向がある。

#### 【0014】

本発明で用いる水溶性高分子量分散剤の添加量は、0.001～10重量%の範囲である。好ましくは0.01～5重量%の範囲であり、さらに好ましくは0.1～5重量%の範囲である。0.001重量%より少ないと、分散安定化効果が見られない。10重量%を超えると、溶媒に対する溶解性が悪くなり、取り扱いにくくなる。

#### 【0015】

本発明の金属コロイド溶液にはさらに一種以上の界面活性剤を含むことができる。界面活性剤を添加させることによって、例えばより分散安定性を向上させたり、膜素材への吸着を抑制させる効果が付与される。界面活性剤としては、陰イオン界面活性剤、非イオン性界面活性剤、両性界面活性剤を用いることができる。陰イオン界面活性剤としてはSDS、非イオン性界面活性剤としてはTriton X-100 Tween 20、Tween 80等を用いることができる。その含有量は0.001～5.0重量%の範囲である。好ましくは0.01～3重量%、さらに好ましくは0.05～2.0重量%の範囲である。

#### 【0016】

本発明の金属コロイド溶液には必要に応じてキレート剤、有機酸およびその塩類をさらに含有していてもよい。キレート剤を含有することによって、例えば分散安定性を向上させたり、膜素材への吸着を抑制させる効果が付与される。キレート剤としてはEDTA等を用いることができる。有機酸およびその塩類としては、クエン酸、クエン酸ナトリウム等を用いることができる。

#### 【0017】

本発明で用いる金属コロイド溶液は、原料金属化合物を、溶媒に溶解し、金属に還元することにより得られる。原料金属化合物としては、塩化金酸、硝酸銀、塩化白金酸、塩化ロジウム(III)、塩化パラジウム(II)、塩化ルテニウム(III)、塩化イリジウム酸塩、酸化オスミウム(VII)などを用いることができる。

#### 【0018】

還元剤としては、クエン酸、クエン酸ナトリウム、タンニン酸、ヒドラジン、水素化ホウ素ナトリウムなどがあげられる。反応温度は室温から溶媒の沸点までの温度である。好ましくは25～100℃、さらに好ましくは40～100℃である。また、反応時間は数分から数日である。さらに還元反応後に、水溶性高分子量分散剤を所定量加えることにより金属コロイド溶液を得ることができる。その後、さらに必要に応じて界面活性剤やキレート剤、有機酸およびその塩類を所定量加えることもできる。

#### 【0019】

本発明の原料金属化合物の溶媒および金属コロイド溶液の分散溶媒としては、一般に水、水溶性有機溶剤、またはこれらの混合物である。水溶性有機溶剤としては、エタノール、メタノール、エチレングリコール等を挙げることができる。好ましくは水、エタノール及びメタノール及びこれらの混合物である。さらに好ましくは水である。

本発明で金属コロイド溶液の安定性は、保存安定性、温度安定性、pH安定性であれば、光学特性を測定すること、または肉眼での凝集物生成、沈殿物形成等により測定することができ、塩に対する安定性であれば塩析等によって確認可能である。

#### 【0020】

光学特性の測定とは分光光度計を用いる金属コロイド溶液のスペクトル測定による極大吸収波長測定である。分光光度計としては、可視および紫外波長領域まで測定可能な性能を有する装置、例えば島津製作所製の紫外可視分光光度計 UV-160Aなどを用いることができる。極大吸収波長は金属コロイド粒子の平均粒子径を代表する。本発明において、50℃1年間の保存で安定である金属コロイド溶液とは、例えば50℃で1年間放置し

た場合の経時的な極大吸収波長の変化において、0日目の極大吸収波長との差が $-1.5 \sim +1.5$  nmの範囲であることをいう。好ましくは $-1 \sim +1$  nmの範囲である。また、肉眼的には凝集物の生成や沈殿物の形成の有無でも安定性を確認することができる。

#### 【0021】

また、本発明において、少なくともpH4~11の範囲で安定であるとは、所定のpHで、180日間室温で保存した後の、極大吸収波長の変化において、0日目の極大吸収波長との差が $-1.5 \sim +1.5$  nmの範囲であることをいう。好ましくは $-1 \sim +1$  nmの範囲である。

#### 【0022】

また、本発明の金属コロイド溶液の安定性は、塩析可能な塩濃度でも表すことができる。ここでいう塩析とは、金属コロイド溶液に塩を加えた後に、一晚放置後、金属コロイド溶液が金属コロイド粒子の沈殿物として沈降し、完全に固/液分離する状態になることを言う。塩析する添加時の塩濃度が高い程、塩に対して安定である。本発明において、塩析による確認における塩に対する安定な金属コロイド溶液とは、 $\text{CaCl}_2$ を最低0.2 M加えた後、一晚放置しても沈殿しないことをいう。

#### 【0023】

本発明のインテグリティ試験とは、タンパクや生理活性物質等を含む溶液の中からウイルスを除去する目的で使用されるウイルス除去膜の使用後の性能確認のために行われる試験のことである。インテグリティ試験として、1) バブルポイント法、2) 膜が有する孔径分布の大きい孔の割合を測定する方法、3) 代替粒子の濾過による方法がある。1) は除菌フィルターなどでも用いられている。測定原理は気体-液体の表面張力差を利用し、気体圧力をかけ最初に気泡が発生した圧力をバブルポイント値として定義している。2) は例えば、液体-液体の低い界面張力を利用する方法である。なかでも3) のウイルス代替粒子の濾過方法は、その原理がウイルス除去と同じ、粒子のふるい濾過であるために、同じメカニズム同士の特性値の相関関係を取ることができ信頼性が高いという特徴がある。

#### 【0024】

さらに、金コロイドの濾過による方法は溶液の調整が容易であり、その濃度測定も簡単で精度がよいので好ましい。インテグリティ試験に際しては、ウイルス除去膜としての使用後に、洗浄処理を行い、膜の残存物（タンパク等）の測定に与える影響（残存物の詰まりなどによる膜の孔径分布変化）を可能なかぎり少なくする工程が必要である。本発明の金属コロイド溶液はpHに対する安定性が高く、塩に対しても安定なため、洗浄処理の簡素化が可能である。

#### 【0025】

他にも本発明の金属コロイド溶液は、フォトクロミック材料、抗菌材料、防黴材料、防藻材料、磁性材料、非線形光学材料、顔料、触媒、導電性材料等に用いることができる。

#### 【0026】

本発明の金属コロイド溶液を用いてインテグリティ試験を行なうには、常法を用いることができる。すなわち、濾過を行なった後のウイルス除去膜をアルカリ等を含んだタンパク除去剤等の洗浄液を使用し洗浄する。その後、膜中に残存するアルカリ溶液を酸で中和処理後、金属コロイド溶液を洗浄処理後のウイルス除去膜で濾過し、除去性を測定する。本発明の金属コロイド溶液は幅広いpH安定性を有するから、ウイルス除去膜のpH耐性等に応じて、適宜pHを選択できる利点がある。金属コロイド溶液の濃度測定は以下の方法で行う。金属コロイド溶液の吸収スペクトルを分光光度計などを用いて測定し、極大吸収波長を特定する。極大吸収波長での金属コロイド溶液の吸光度を濾過前後で測定し、対数除去係数(LRV)として表す。ここで、濾過前の吸光度を $C_o$ 、濾過後の吸光度を $C_f$ とすると対数除去係数は下記の式により求められる。

対数除去係数(LRV) =  $\text{Log}_{10} (C_o / C_f)$

#### 【実施例】

#### 【0027】

次に、実施例および比較例によって本発明を説明する。

【0028】

[実施例1]

6.0mMの塩化金酸(和光製、試薬特級)の水溶液80gを反応容器にとり、蒸留水を320g、4%クエン酸ナトリウム水溶液を13.1g添加し、78℃で30分反応を行った。この時の溶液中の金濃度は約500ppmであった。反応終了後、東京化成社製PVP(K-15)(分子量10000)30%水溶液を39.8g添加した後、5%SDS水溶液を24.0g添加することによって濃厚で青紫色の金コロイド溶液を得た。その後、本溶液を塩酸または水酸化ナトリウムを用いてpH=4.7~5.3に調整した。この金コロイド溶液をコロジオン膜張り付きメッシュ上で乾固し、透過型電子顕微鏡により観察した。金微粒子の分散状態は良好で、平均粒子径は約28~37nmであった。分光光度計により吸収スペクトルを測定したところ、金プラズモン吸収に由来する520~540nmに最大吸収が見られた。金プラズモン吸収に由来する吸収スペクトルは粒子径が数nm~数十nm程度の所謂ナノ粒子において見られるものである。また、極大吸収波長の値と平均粒子径の間には極めて高い相関関係があることが判っている。この金コロイド溶液の極大吸収波長の変化において、0日目と各経過日数での極大吸収波長の差が-1.5nmから+1.5nmの範囲であり、50℃の環境下で1年間安定であった。結果を表1に示す。

【0029】

[実施例2]

実施例1の方法で生成した金コロイド溶液を80℃環境下で貯蔵した。この金コロイド溶液の吸光特性で6日以上安定であった。結果を表2に示す。

【0030】

[実施例3]

6.0mMの塩化金酸の水溶液80gを反応容器にとり、蒸留水を320g、4%クエン酸ナトリウム水溶液を15.9g添加し、70℃で60分反応を行った。この時の溶液中の金濃度は約500ppmであった。反応終了後、東京化成社製PVP(K-15)(分子量10000)30%水溶液を39.8g添加した後、5%SDS水溶液を24.0g添加することによって濃厚で鮮やかな赤色の金コロイド溶液を得た。その後、本溶液を塩酸または水酸化ナトリウムを用いてpH=2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 7.0, 9.0, 11.0に変化させた。この金コロイド溶液をコロジオン膜張り付きメッシュ上で乾固し、透過型電子顕微鏡により観察した。金コロイド粒子の分散状態は良好で、平均粒子径は約20~24nmであった。各pHの金コロイド溶液を室温で180日間貯蔵しても吸光特性は安定であった。結果を表3に示す。

【0031】

[実施例4]

実施例3にて生成した金コロイド溶液に、塩化カルシウムを添加した。十分攪拌混合した後、1晩放置した。結果を表4に示す。pH4, 5, 7, 9, 11の金コロイド溶液については塩化カルシウムを0.2Mまで添加しても沈殿しなかった。

【0032】

[比較例1]

6.0mMの塩化金酸の水溶液80gを反応容器にとり、蒸留水を320g、4%クエン酸水溶液を13.9g添加し、80℃で30分反応を行った。この時の溶液中の金濃度は約500ppmであった。反応終了後、シグマ社製ポリエチレングリコール20%水溶液を18.0g添加した後、ナカライテスク社製の5%SDS水溶液を25.0g添加することによって金コロイド溶液を得た。その後、本溶液を塩酸または水酸化ナトリウムを用いてpH=4.7~5.3に調整した。この金コロイド溶液をコロジオン膜張り付きメッシュ上で乾固し、透過型電子顕微鏡により観察した。金微粒子の分散状態は良好で、平均粒子径は約34~39nmであった。この金コロイド溶液を実施例と同様に50℃環境下で貯蔵し、結果を表1に示す。安定性は実施例と比較して悪く、保存240日後には大きく吸光特性が変化した。

【0033】

[比較例2]



比較例1にて生成した金コロイド溶液を実施例と同様に80℃環境下で貯蔵し、結果を図2に示す。安定性は実施例と比較して非常に悪く、4日後には凝集・沈殿し吸光特性も大きく変化した。結果を表2に示す。

#### 【0034】

##### 【比較例3】

6.0mMの塩化金酸の水溶液80gを反応容器にとり、蒸留水を320g、4%クエン酸水溶液を15.9g添加し、70℃で60分反応を行った。この時の溶液中の金濃度は約500ppmであった。反応終了後、シグマ社製ポリエチレングリコール20%水溶液を18.0g添加した後、ナカライテスク社製の5%SDS水溶液を25.0g添加することによって金コロイド溶液を得た。この金コロイド溶液を、塩酸および水酸化ナトリウムを用いて溶液のpHを2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 7.0, 9.0, 11.0に変化させた。このうちpH=5.0からなるコロイド溶液をコロジオン膜張り付きメッシュ上で乾固し、透過型電子顕微鏡により観察した。金微粒子の分散状態は良好で、平均粒子径は約18-22nmであった。各pHの金コロイド溶液を室温で貯蔵し、結果を図3に示す。pH=2.0、7.0、9.0、11.0の溶液については実施例3と比較して保存安定性が悪く、貯蔵180日目には吸光特性が変化した。また、pH=2.0の溶液については、90日経過以降、凝集・沈殿し測定不可能であった。結果を表3に示す。

##### 【比較例4】

比較例3にて生成した金コロイド溶液に、塩化カルシウムを添加した。実施例4と同様に攪拌・静置し、結果を表4に示した。0.04M以下の低濃度で著しく凝集し沈殿した。

#### 【0035】

##### 【実施例5】

特許第3093821号明細書に記載の方法に従って、平均孔径13.8nm、15.5nm、15.7nm、17.6nm、19.3nm、23.8nm、24.3nm、24.8nm、36.1nmの銅アンモニア法再生セルロース多孔性中空糸膜を用いて、膜面積0.01m<sup>2</sup>のフィルターを製造した。実施例3のpH=4から11の金コロイド溶液をさらに各pHの0.27%SDS水溶液用いて10倍に希釈後、上記の孔径違いのフィルターで濾過した。濾過方法は定圧Dead-end法で、濾過圧力は26.7kPaにて行った。5~10mlの濾液フラクションについて金コロイド濃度を吸光度より測定し、金コロイドのLRVを算出した。指標ウイルスとしてポリオウイルスを10%胎児牛血清を含んだD-MEM中に10<sup>6.47</sup>TCID<sub>50</sub>/mlになるように調製後、上記の各種孔径中空糸膜からなるフィルターで濾過した。0~30mlの濾液フラクションについてのウイルス濃度はFL細胞に対する50%細胞致死能からTCID<sub>50</sub>/mlとして算出した。金コロイド除去性とウイルス除去性との相関関係を図1に示す。良好な相関関係を示し、この結果から本発明の金属コロイド溶液はウイルス除去膜のインテグリティ試験に使用可能である。

#### 【0036】

##### 【実施例6】

特許第3093821号明細書に記載の方法に従って、平均孔径16.5nmの銅アンモニア法再生セルロース多孔性中空糸膜からなる膜面積0.001m<sup>2</sup>のフィルターを製造した。実施例3の各pHからなる金コロイド溶液をさらに、各pHの0.27%SDS水溶液で10倍に希釈した液を用いて、定圧Dead-end法で、濾過圧力26.7kPaで濾過した。4~6mlの濾液フラクションについて金コロイド濃度を吸光度測定より求め、LRVを算出した。結果を表5に示す。pH4から11の範囲でほぼLRV=2の値を示し、このpH範囲内では、インテグリティ試験において一定のLRV値を示すことがわかった。

#### 【0037】

##### 【比較例6】

比較例3の各pHからなる金コロイド溶液を実施例6と同様に希釈後、実施例6と同じフィルターを用いて濾過し、LRVを算出した。結果を表5に示す。pHが大きくなるにつれてLRVが大きくなり、LRVのpH依存性があることがわかった。

## 【0038】

## 【実施例7】

6.0mMの塩化金酸の水溶液80gを反応容器にとり、蒸留水を320g、4%クエン酸ナトリウム水溶液を19.0g添加し、70℃で60分反応を行った。この時の溶液中の金濃度は約500ppmであった。反応終了後、東京化成社製PVP（分子量10000）30%水溶液を39.8g添加した後、5%SDS水溶液を24.0g添加することによって濃厚で鮮やかな赤色の金コロイド溶液を得た。その後、本溶液を塩酸または水酸化ナトリウムを用いてpH=4.7~5.3に調整した。この金コロイド溶液をコロジオン膜張り付きメッシュ上で乾固し、透過型電子顕微鏡により観察した。金コロイド粒子の分散状態は良好で、平均粒子径は約16-20nmであった。特許第3093821号明細書に記載の方法に従って平均孔径19.3nmの銅アンモニア法再生セルロース多孔性中空糸膜からなる膜面積0.01m<sup>2</sup>のフィルターを製造した。3%濃度のウシグロブリン生理食塩水溶液を1時間濾過後、30ml水洗した。その後0.25N NaOHと1% SDS混合水溶液で30ml洗浄し、さらに1/3000N HCl水溶液 80ml洗浄、水で30ml洗浄した。さらに金コロイド液を0.27% SDS水溶液で10倍に希釈した液を濾過圧力26.7kPaにて濾過し、5~10mlフラクションでの金コロイド濃度を吸光度から測定し、LRVを算出した。また、上記からHCl洗浄工程のみを省略し、同様に金コロイド濾過を行い、LRVを算出した。比較としてグロブリン濾過および洗浄処理を行っていないフィルターで金コロイド濾過を行い、LRVを算出した。また、透水回復率は蛋白濾過前のフィルター透水量に対する蛋白洗浄処理後のフィルター透水量の比率である。結果を表6に示す。HCl洗浄処理工程を省略しても、同じLRVを示した。

## 【0039】

## 【表1】

	経過日数(日)			
	0	240	300	360
実施例1	535.2nm	534.3nm	534.8nm	534.8nm
比較例1	534.1nm	532.3nm	532.4nm	532.5nm

## 【0040】

## 【表2】

	経過日数(日)		
	0	4	6
実施例2	533.6nm	533.5nm	533.6nm
比較例2	534.3nm	527.6nm	沈殿し測定不可

## 【0041】

【表 3】

pH	実施例 3			比較例 3		
	経過日数 (日)		180日と0日の 極大吸収波長 の差	経過日数 (日)		180日と0日の 極大吸収波長 の差
	0	180		0	180	
2	530.2nm	530.8nm	+0.6nm	524.9nm	測定不可	測定不可
3	530.2nm	530.8nm	+0.6nm	524.6nm	524.5nm	-0.1nm
4	529.8nm	530.2nm	+0.4nm	523.8nm	523.8nm	+0.0nm
5	529.8nm	529.9nm	+0.1nm	523.6nm	524.1nm	+0.5nm
7	529.7nm	529.2nm	-0.5nm	523.4nm	525.7nm	+2.3nm
9	529.4nm	529.0nm	-0.4nm	523.3nm	525.4nm	+2.1nm
11	528.9nm	528.8nm	-0.1nm	522.9nm	525.5nm	+2.6nm

【0042】

【表 4】

pH	実施例4	比較例4
2	0.2M添加で沈殿	0.04M以下の 添加で沈殿
3		
4	0.2M添加で沈殿 せず	
5		
7		
9		
11		

【0043】

【表 5】

実施例6		比較例6	
pH	LRV	pH	LRV
2	0.96	2	1.22
3	1.45	3	1.34
4	1.85	4	1.54
5	2.13	5	1.76
7	2.11	7	2.64
9	2.06	9	2.92
11	2.28	11	3.00

【0044】

【表 6】

洗浄方法	最後の水洗後のpH	透水回復率(%)	金コロイドLRV
水洗→NaOH+SDS洗浄→ HCl洗浄→水洗	5.3	97	2.1
水洗→NaOH+SDS洗浄→ 水洗	9.45	98	2.1
蛋白濾過、洗浄なし		100	2

## 【産業上の利用可能性】

【0045】

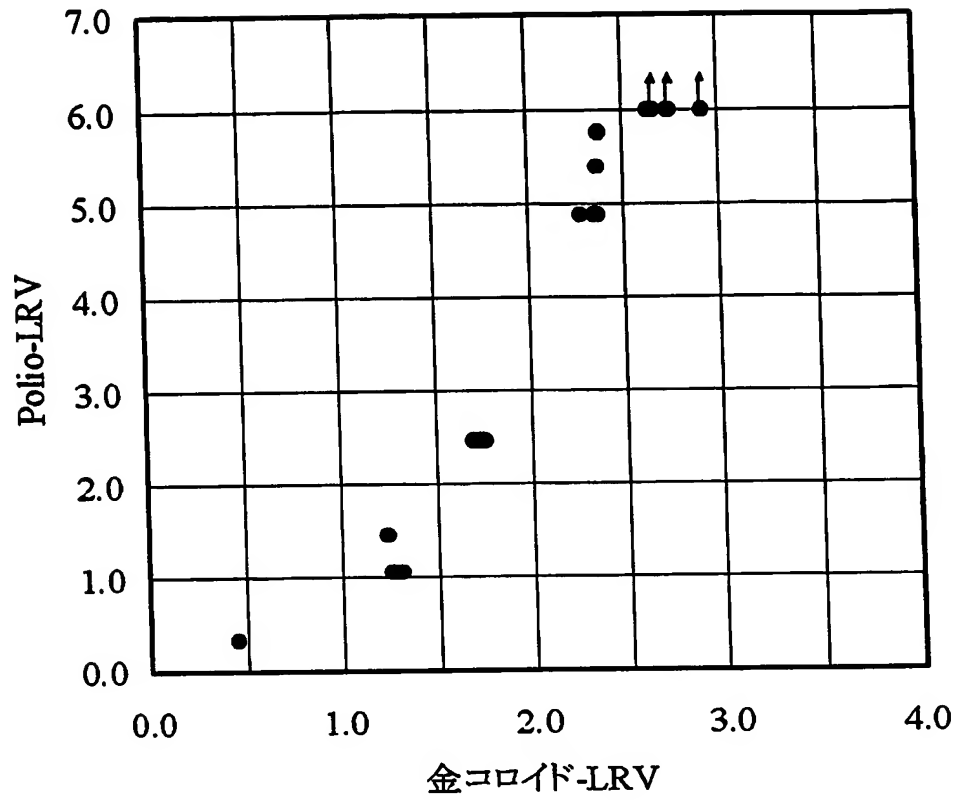
本発明の金属コロイド溶液は、保存安定性、温度安定性、pH安定性、塩に対する安定性を示し、ウイルス除去膜のインテグリティ試験用のウイルス代替粒子として好適である。

## 【図面の簡単な説明】

【0046】

【図1】金コロイドの除去性とポリオウイルス除去性との相関関係を示した図である。図中の矢印はLRVがその値以上であることを示す。

【書類名】図面  
【図 1】



## 【書類名】要約書

## 【要約】

【課題】 保存安定性、pH安定性、塩に対する安定性を示し、ウイルス除去膜のインテグリティ試験用のウイルス代替粒子として有用な金属コロイド溶液の提供。

【解決手段】 平均粒子径1～100nmの金属コロイド粒子及び水溶性高分子量分散剤及び水または／および水溶性有機溶剤を含み、pHが4から11の範囲であることを特徴とする金属コロイド溶液。

【選択図】 選択図なし

【書類名】 出願人名義変更届 (一般承継)  
【提出日】 平成15年10月 1日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【事件の表示】  
    【出願番号】 特願2003-275847  
【承継人】  
    【識別番号】 303046299  
    【氏名又は名称】 旭化成ファーマ株式会社  
    【代表者】 中岡 靖晶  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 商業登記簿謄本 1  
    【援用の表示】 平成 0 4 年特許願第 1 5 4 5 9 4 号  
    【物件名】 承継証明書 1  
    【援用の表示】 平成 0 4 年特許願第 1 5 4 5 9 4 号

特願 2003-275847

出願人履歴情報

識別番号

[000000033]

1. 変更年月日

2001年 1月 4日

[変更理由]

名称変更

住所

大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号

氏名

旭化成株式会社



特願 2 0 0 3 - 2 7 5 8 4 7

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 3 0 3 0 4 6 2 9 9 ]

1. 変更年月日

2 0 0 3 年 8 月 2 0 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都千代田区神田美土代町 9 番地 1

氏 名

旭化成ファーマ株式会社